

Opinnäytetyö (AMK)

Bio- ja elintarviketekniikan ko.

Laboratoriotekniikka

2016

Satu Holmberg

# KALIBROINTI- JA STANDARDILIUOSTEN KÄYTTÖ JA VALMISTUSPROSESSI

– AutoDELFIA

Satu Holmberg

# KALIBROINTI- JA STANDARDILIUOSTEN KÄYTTÖ JA VALMISTUSPROSESSI

Opinnäytetyön tavoitteena oli varmistaa Wallac Oy:n huolto- ja kalibroitiliuosten valmistusprosessin jäljitettävyyttä mittaepävarmuuksineen ja sopivuus käyttötarkoitukseensa. Työssä tutkittiin liuksilla huolletaan terveydenhuollon diagnostisessa käytössä olevia aikaeroitteisia fluorometrejä. Terveystuotteen laitteiden, niiden huollon ja kalibroinnin tulee täyttää viranomaisvaatimukset siinä maassa, missä laite on käytössä. Työn tavoitteena oli myös varmistaa viranomaisvaatimusten ja laatustandardien täytyminen kalibrointi- ja huoltoliuosten osalta.

Tiedonhankintamenetelminä käytettiin laboratorioalan kirjallisuutta ja Wallac Oy:n dokumentteja, kuten ohjeita ja koulutusmateriaalia. Selvitystyössä esiintyvät laatu- ja viranomaisvaatimukset perustuvat ISO-standardeihin ja EY:n direktiiviin 98/79/EY.

Tutkimuksen perusteella voidaan todeta, että Wallac Oy:n valmistamat liuokset täyttävät laatu- ja viranomaisvaatimukset. Tutkimuksessa tuli silti esiin asioita, joita tarkentamalla liuosten valmistusprosessia voidaan kehittää. Myös kehittämällä kenttähuollon ohjeita, voidaan tarjota asiakkaille tasalaatuisempaa huoltopalvelua.

## ASIASANAT:

kalibrointi, laatu, tuotantoprosessi, laatustandardit, terveydenhuolto, diagnostiikka, IVD

Satu Holmberg

## USE AND PRODUCTION PROCESSES OF CALIBRATION AND STANDARD SOLUTIONS

The main goal of this study was to verify that calibration solutions produced by Wallac Inc. have the correct measurement uncertainties, are suitable for their use and are traceable through their manufacturing processes. The calibration solutions are used for maintenance and calibration of time-resolved fluorometry instruments for scientific research and clinical uses, these are classified as medical devices. The regulation of medical devices across the world is varied. Therefore, the medical device products, and their maintenance and calibration must comply with domestic regulations in the country where the medical device is used. An additional objective of the study was to ensure that the country-specific requirements for calibration solutions are fulfilled.

The study is based on laboratory field specific literature and Wallac's own documentation such as instructions and training material. The Quality related and official regulations referred to in the study are ISO standards and In vitro diagnostic medical devices EY directive 98/79/EC.

This study indicated that the calibration solutions prepared by Wallac comply with the set quality and official regulations. However, it was found that the calibration solution production processes could be improved and optimized. Moreover, by improving the field maintenance instructions of the medical devices, it is possible to provide the customers maintenance service of more uniform quality.

### KEYWORDS:

calibration, quality, production process, health care, standards, IVD

# SISÄLTÖ

<b>KÄYTETYT LYHENTEET</b>	<b>6</b>
<b>1 JOHDANTO</b>	<b>7</b>
1.1 Wallac Oy:n laatujärjestelmä	7
1.2 Opinnäytetyön tarkoitus	8
<b>2 KALIBROINTI</b>	<b>9</b>
2.1 SFS-EN ISO/IEC 17025-standardi	10
2.2 Mittaepävarmuuden arviointi	10
2.3 Mittausten jäljitettävyys	11
2.4 Referenssinormaali	12
<b>3 MITTAVIRHEIDEN JA KOKONAISMITTAEPÄVARMUUDEN ARVIOIMINEN</b>	<b>13</b>
3.1 Mittausepävarmuus	13
3.2 Mittausepävarmuuden laskeminen	14
<b>4 AUTODELFIA</b>	<b>16</b>
4.1 Toimintaperiaate	16
4.2 Laitteen mittaussominaisuudet	18
<b>5 FLUORESENSSI</b>	<b>19</b>
5.1 Fluorometri	19
<b>6 KALIBROINTI- JA STANDARDILIUOSVALMISTUS</b>	<b>21</b>
6.1 Europium-, samarium- ja terbiumkalibrointiliuokset	21
6.2 Europium-, samarium- ja terbiumstandardiliuokset	22
6.3 Europium- ja samariumlineaarisuussarjat	23
<b>7 AUTODELFIAN KALIBROINTIOHJE</b>	<b>24</b>
7.1 Signaalitason mittaukset	24
7.2 Lämpötila-anturi	25
7.3 Annostelu	25
7.4 Epävarmuus	25
<b>8 TULOKSET JA MUUTOSEHDOTUKSET</b>	<b>26</b>
8.1 Europium standardiliuoksen laimennus	26

8.2 Europiumkalibroitiliuoksen laimennus	27
8.3 Lineaarisuussarjat	28
8.4 AutoDelfian mittaominaisuudet ja huolto-ohjeet	28
8.5 Europium-, samarium- ja terbiumstandardiliuosten sertifikaatit	29
8.6 Eräohjeiden täyttö ja jäljitettävyys	29
<b>LÄHTEET</b>	<b>30</b>

## **LIITTEET**

- Liite 1. Wallac Oy:n täyttämät laatustandardit ja viranomaisvaatimukset  
Liite 2. 1 nM Eu-kalibroitiliuoksen valmistusprosessin epävarmuustekijät

## KÄYTETYT LYHENTEET

Lyhenne	Lyhenteen selitys
NIST	National Institute of Standards and Technology
Cps	Fluoresenssisignaali eli counts ( <i>Counts Per Second</i> )
U.S. FDA	Yhdysvaltojen elintarvike- ja lääkevirasto (Food and Drug Administration).
IVD	In Vitro Diagnostics
ISO	Kansainvälinen standardoimisjärjestö
SFS	Suomen standardisoimisliitto
IFMA	Immunofluorometrinen määrittäminen ( <i>Engl. Immunofluorometric assay</i> )
FIA	Vasta-ainereaktioon perustuva määrittäminen, jossa merkkiaineena fluorenssoiva yhdiste. ( <i>Engl. Fluoroimmunoassay</i> )
AAS	Atomiabsorptiospektrometri
SI	Kansainvälinen yksikköjärjestelmä

# 1 JOHDANTO

Wallac Oy on Turussa toimiva lääketieteellisten analyysilaitteiden, diagnostisten instrumenttien ja reagenssien valmistaja. Vuodesta 1999 Wallac Oy on ollut osa PerkinElmer, Inc:n Life Sciences yksikköä. PerkinElmer on monikansallinen yritys, jonka pääkonttori sijaitsee USA:ssa (Waltham, Massachusetts). PerkinElmer toimii yli 150 maassa ja työntekijöitä yrityksellä on n. 7000.<sup>1</sup>

PerkinElmerin liiketoiminta on jaettu kahteen osa-alueeseen Human Health:iin ja Environment Health:iin. Turun yksikkö kuuluu Human Health-alueeseen. Turussa kehitetään ja valmistetaan tuotteita bioanalyttisen tutkimuksen, lääkekehityksen, kliinisen seulonnan ja kliinisen diagnostiikan tarpeisiin. Analyysilaitteet ohjelmistoinen valmistetaan ja suunnitellaan Turun yksikössä. Myös valmistettujen laitteiden huollon tuki toimii Turussa. Wallac on yksi PerkinElmerin suurimmista tuotanto- ja tuotekehitysyksiköistä.<sup>1</sup> Wallacilla on Turussa oma paikallisjohto. Turussa valmistettavia tuotteita myydään yli 60:en maahan ja kaikkiin maanosiin.<sup>2</sup>

## 1.1 Wallac Oy:n laatujärjestelmä

Wallacin laadunhallintajärjestelmä koostuu prosesseista, jotka vaikuttavat toisiinsa. Toimivan järjestelmän avulla Wallac pystyy varmistamaan, että asiakkaille toimitetut tuotteet ovat turvallisia ja toimivia. Wallacin valmistamien tuotteiden on täytettävä viranomaisten asettamat vaatimukset niissä maissa, joihin tuotteita myydään.<sup>2</sup> Suomessa vaatimukset asettaa Suomen laki terveydenhuollon laitteista ja tarvikkeista. Amerikkaan vietävien tuotteiden on täytettävä Yhdysvaltojen elintarvike- ja lääkeviraston, US FDA:n asettamat laatuvaatimukset ja Kanadassa Health Canadian vaatimukset. Euroopan Unionin alueella myytäviä tuotteita säädellään direktiivein.<sup>2</sup> Liitteessä 1 on lista direktiiveistä, jotka Wallacin täytyy huomioida myydessään tuotteita EU-alueella.

Viranomaisten asettamien laatuvaatimusten lisäksi Wallacin toiminta täyttää myös monet ISO-laatustandardit. Liitteessä 1 on lista myös niistä standardeista,

jotka Wallacin toiminta täyttää. Laatuvaatimusten noudattamista valvotaan ulkoisin ja sisäisin auditoinnein. Ulkoisessa auditoinnissa riippumaton taho selvittää, täyttyvätkö laatulupaukset yrityksen toiminnassa.

Monissa standardeissa edellytetään, että yrityksen on osallistuttava mahdollisuuksien mukaan myös laboratorioiden välisiin vertailuihin ja pätevyyskokeisiin<sup>3</sup>.

## 1.2 Opinnäytetyön tarkoitus

Tarkastelun kohteena olevat, Wallac Oy:n valmistamat kalibrointi- ja standardiliuokset, ovat olleet tuotannossa kauan. Nyt haluttiin varmistaa, että valmistetut liuokset täyttävät myös nykyiset, tiukentuneet viranomaisvaatimukset ja luvatut laatustandardit dokumentoinnin, käyttötarkoituksen ja jäljitettävyyden osalta.

Kilpailu globaalissa markkinataloudessa edellyttää kilpailukykyisiä hintoja, ja sitä kautta tehokasta, tasalaatuista ja luotettavaa tuotantoprosessia. Tuotantokustannuksia voidaan alentaa tehokkaalla prosessin suunnittelulla laatua heikentämättä. Työlääät ja monimutkaiset prosessit ovat alttiita virheille ja kuluttavat paljon työaikaa. Prosesseissa tapahtuneet virheet voivat maksaa yritykselle paljon materiaalihävikkinä, toimitusvaikeuksina ja asiakastyytyväisyyden alenemisenä. Työssäni tarkastelin myös mahdollisuutta tuotantoprosessien tehostamiseksi.

Prosessisuunnittelussa on tärkeää tiedostaa lopputuotteelle asetetut vaatimukset ja laatuodotukset. Liian korkeat laatuvaatimukset lisäävät tuotantokustannuksia ja pienentävät tuotteesta saatua katetta, mutta eivät tuo lisäarvoa asiakkaalle. Epävarmuudet tulee silti tunnistaa ja tiedostaa läpi tuotantoketjun, jotta niiden yhteisvaikutusta voidaan arvioida lopputuotteen kannalta.



## 2 KALIBROINTI

Kalibroinnilla osoitetaan ja varmistetaan, että mittalaite täyttää ne laatuksiteerit, jotka sille on laatujärjestelmässä kirjattu. Kalibrointi suoritetaan laitteen oman huolto- ja kalibroitisuunnitelman mukaisesti, säännöllisin väliajoin. Kalibrointisuunnitelma kannattaa suunnitella huolellisesti, koska vain riittävän usein kalibroidun laitteen antamiin tuloksiin voi luottaa. Laitteen kalibroititodistus on dokumentti, jolla laitteen jäljitettävyys voidaan todistaa. Kalibroititodistuksessa on ilmoitettu laitteen kokonaisvirhe.<sup>4</sup>

Kalibroinnin tarkoitus on määrittää mittalaitteen tulosten epävarmuus. Jos kalibroinnissa käytetään referenssiä, joka ei ole jäljitettävä SI-yksiköihin tai referenssiä, jolle valmistaja ei pysty antamaan fysikaalista tai kemiallista luotettavaa karakterisointia, ei menetelmää voi kutsua standardin SFS-EN ISO/IEC 17025 mukaiseksi kalibroinniksi.<sup>3</sup> Koska epäluotettavan referenssin käyttö aiheuttaa tuloksissa virheen, eikä mittalaitteen omaa virhettä pystytä erottamaan tuloksista. Epävarmoilla referensseillä tehdyt kalibroinnit ovat merkityksettömiä, eivätkä ne täytä laatuksiteerien asettamia vaatimuksia. Kalibroitiliuoksen on oltava tarkempi, kuin kalibroitavan laitteen tarkkuus. Kalibroinnin yhteydessä käytettävät oheismittamittalaitteet, on myös oltava kalibroituja<sup>3</sup>. Muussa tapauksessa kalibroititulokseen ei voida luottaa, eikä se täytä laatuksiteerdeja. Jos kalibroititoimenpiteet eivät ole riittävän kattavia antamaan luotettavaa kuvaa laitteen oikeanlaisesta toimivuudesta, ei menetelmää voi kutsua kalibroinniksi. Rinnakkaisnäytteiden määrä on oltava riittävän suuri, jotta laitteen antamien tulosten keskihajonta ja tulos eivät anna väärää kuvaa laitteen toimivuudesta. Toistettavien mittausten määrä ja kalibroitialue täytyy suunnitella laitteen käytön perusteella<sup>3</sup>.

Laitetta kalibroitaessa toistetaan mittaustoimenpidettä tarkasti tunnetuissa olosuhteissa. Olosuhteiden tulee vastata niitä olosuhteita, joissa laitetta yleensä käytetään. Näin voidaan määrittää mahdollisimman tarkasti juuri se epävarmuus, joka laitteen normaalissa käytössä esiintyy. Toistettujen mittausten tulok-

sia verrataan referenssin arvoon, jotta voidaan määrittää laskemalla kyseisen laitteen antamien tulosten virhe ja hajonta.<sup>3</sup>

Kalibroinnissa käytettävän mittanormaanin on oltava tarkka ja jäljitettävissä katkeamattomalla ketjulla aina kansainvälisiin, hyväksyttyihin mittanormaaleihin siten, että ketjun kokonaismittaepävarmuus on tunnettava.<sup>5</sup> Jäljitettävyys on perusta verrattaessa eri analyysilaitteilla eri aikoihin tehtyjä määrittäyksiä. Laboratorioiden väliset vertailumittaukset on hyvä tapa osoittaa laboratorioiden toimivuus avoimesti. Kalibroinnin yhteydessä mittalaite voidaan myös virittää, mutta se ei ole välttämätöntä. Viritettäessä laite säädetään näyttämään tunnetulla referenssillä oikeaa tulosta. Viritys ei vaikuta laitteen tarkkuuteen.<sup>4</sup>

## 2.1 SFS-EN ISO/IEC 17025-standardi

Tämä kansainvälinen standardi määrittää yleiset vaatimukset päteville testauksille ja kalibroinneille. Standardi soveltuu käytettäväksi kaikissa kalibrointia tekevissä organisaatioissa, myös niissä joissa kalibrointi on osana tarkastustoimintaa ja tuotesertifiointia. Standardin mukaan kalibrointimenetelmien pitää vastata tarpeita. Menetelmiä käyttöön otettaessa tulee toiminnan olla suunniteltua. Standardin mukaan suunnittelussa on hyvä ottaa huomioon mm. ympäristömuuttujat, mittausalue, tarvittavat referenssinormaalit ja referenssimateriaalit.<sup>3</sup>

Wallac noudattaa standardia omien tuotantolaitteiden ja laadunvalvontalaitteiden ylläpidossa<sup>2</sup>. Koska Wallac myös valmistaa liuoksia, joita muut laboratoriot käyttävät kalibrointeihin, tulee liuoksia valmistettaessa ottaa standardin asettamat vaatimukset huomioon.

## 2.2 Mittaepävarmuuden arviointi

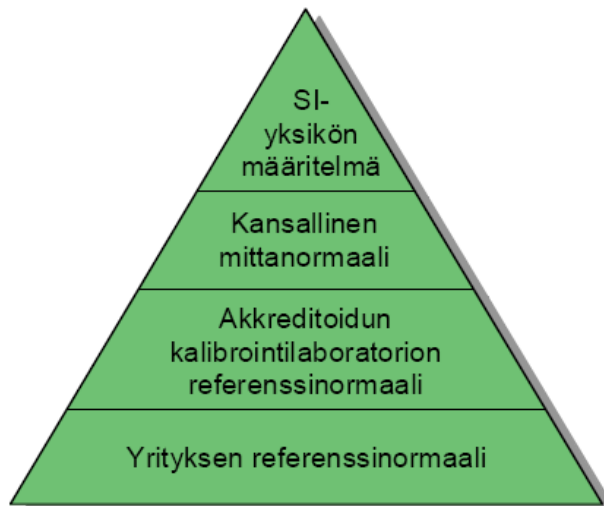
Kaikille kalibrointi- ja testausmenetelmille tulee laatia menettelytavat mittaepävarmuuden arvioimiseksi. Jos menetelmä on sellainen, että tarkan metrologisesti pätevän epävarmuuslaskennan tekeminen on mahdotonta, tulee tunnistaa kaikki epävarmuustekijät ja varmistaa ettei tulosten esitystapa anna virheellistä

kuvaa epävarmuudesta. Arvion mittaepävarmuudesta tulee perustua menetelmän toimivuuteen, mittausten soveltamisalaan ja aiempaan validointitietoon. Huomioon on otettava kaikki tilanteessa tärkeät epävarmuustekijät, kuten referenssinormaalit ja materiaalit.<sup>3</sup>

### 2.3 Mittausten jäljitettävyys

Standardin mukaan kaikki mittauksessa ja kalibroinnissa käytettävät laitteet, mukaan lukien sellaiset oheismittauksiin käytetyt laitteet, joilla on vaikutusta epävarmuuteen, tulee olla kalibroituja suunnitellun ohjelman mukaisesti. Wallacin laatukäsikirja edellyttää käytössä olevien laitteiden merkitsemisen aakkosnumeerisella tunnisteella, jotta tuotannon jäljitettävyys on mahdollista. Laiterekisterin avulla seurataan myös huolto- ja kalibrintisuunnitelman toteutumista jokaisen laitteen kohdalla. Tarkastukset, huollot ja kalibroinnit dokumentoidaan rekisteriin. Rekisteri myös ilmoittaa käyttäjälle laitteen lähestyvistä kalibrointiajankohdasta.<sup>6</sup>

Kalibrintiohjelma tulee toteuttaa siten, että kalibrointien ja mittausten jäljitettävyys on aukoton aina kansainväliseen mittayksikköjärjestelmään (SI) saakka, kuten kuvassa 1 esitetään. Laboratorion omien mittanormaalien ja mittauslaitteiden jäljitettävyys kansainväliseen mittayksikköjärjestelmään perustuu katkeamattoman kalibrointi- ja vertailuketjun välityksellä asianomaiseen SI-yksiköiden keskeisiin primäärinormaaleihin.<sup>3</sup> Kaikkia kalibrointeja ei pystytä toteuttamaan SI-yksikössä. Näissä tapauksissa tulee käyttää luotettavuuden osoittamiseksi asianmukaisiin mittanormaaleihin perustuvaa jäljitettävyyttä. Referenssimateriaali, jolle toimittaja pystyy antamaan luotettavan fysikaalisen tai kemiallisen karakterisoinnin, voi toimia tällaisena luotettavana mittanormaalina.<sup>3</sup>



Kuva 1. Mittausten jäljitettävyysskaavio. Kalibroinnissa laitetta verrataan referenssiin, jotka on kalibroitu akkreditoidussa kalibrointilaboratoriossa. Akkreditoidut kalibrointilaboratoriot ovat jäljitettävissä kansainvälisiin SI-yksikköjärjestelmään.<sup>5</sup>

## 2.4 Referenssinormaali

Laboratoriolle täytyy laatia ohjelma myös referenssinormaalien kalibroimiseksi. Kalibroinnin jäljitettävyys tulee mahdollisuuksien mukaan ulottaa aina SI-mittayksiköihin tai sertifioituun referenssimateriaaliin. Referenssinormaalien tilaa tulee seurata laaditun kalibrointisuunnitelman mukaisesti.<sup>3</sup> Wallacin dokumentti 13902518 määrittää yrityksen kalibrointikäytössä olevat mittanormaalit, joilla osoitetaan kalibrointien jäljitettävyys.<sup>6</sup>

Wallacilla mittanormaalit lisätään kalibrointitietokantaan, joka valvoo niiden kalibrointiohjelman toteutumista. Wallacin mittanormaalit säilytetään lukitussa kaapissa.<sup>6</sup> Näin varmistetaan, että referenssimateriaali on aina luotettavaa ja mittanormaalit standardin vaatimusten mukaisesti kalibroituja.

### 3 MITTAVIRHEIDEN JA KOKONAISMITTAEPÄVARMUUDEN ARVIOIMINEN

Kalibrintiliuos valmistetaan primääristä standardiliuosta laimentamalla. Primäärisen standardin ja laimentamisprosessin jokaisen työvaiheen mittausepävarmuus tulee tuntea, jotta prosessin luotettavuus ja laatu voidaan arvioida kokonaisuutena. Kaikkiin mittauksiin sisältyy systemaattisia ja satunnaisia virhelähteitä. Systemaattiset virheet voidaan yleensä eliminoida, kun tuotantoprosessi on suunniteltu ja tunnettu tarkasti.<sup>4</sup>

#### 3.1 Mittausepävarmuus

Mittausvirheet sisältyvät jokaiseen määrittelyyn. Mittausvirhe on mitatun arvon ja todellisena pidetyn arvon välinen ero, joka kuvaa mittatulosten oletettua hajontaa tietyllä todennäköisyydellä. Analyysi on luotettava vain, kun sen tarkkuus ja mittaepävarmuus tunnetaan.<sup>7</sup> Mittausvirheet voidaan jakaa systemaattisiin ja satunnaisiin virheisiin. Systemaattiset virheet on mahdollista yleensä poistaa lähes kokonaan, jos analyysilaitteet ovat säännöllisesti huollettuja, viritettyjä ja kalibroituja. Laitteelle kalibroinnin yhteydessä annettu kalibrintodistus kertoo kyseisen laitteen mittaepävarmuuden kalibrintihetkellä.<sup>16</sup>

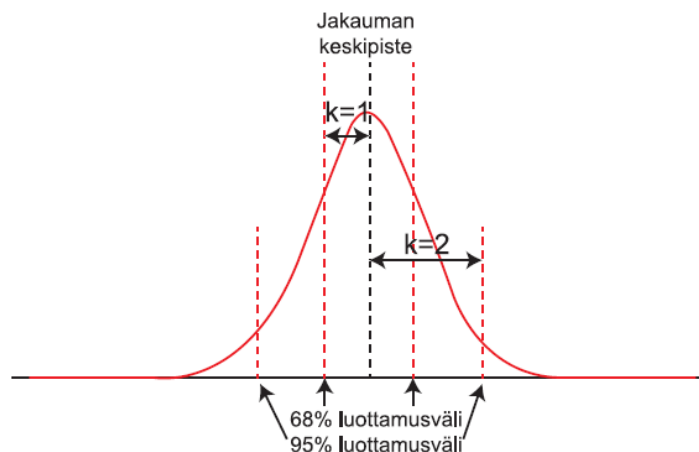
Prosessin suunnittelulla voidaan vaikuttaa myös satunnaisvirheiden todennäköisyyteen. Pitämällä työvaiheiden määrä mahdollisimman alhaisena, käyttämällä mahdollisimman tarkkoja mittalaitteita ja kouluttamalla henkilökuntaa, voidaan satunnaisvirheet minimoida. Satunnaisvirheet ovat kuitenkin ennakoimattomia, eikä niitä voida täysin poistaa edes tarkalla suunnittelu- ja laboratoriotyöllä.<sup>7</sup>

Jokainen työvaihe, mittaväline ja käsittely lisäävät tuloksen epävarmuutta.<sup>5</sup> Mittaepävarmuustekijöiden tunnistamisessa ja virhelähteiden arvioinnissa auttaa syy-seurauskaavion tekeminen. Kaavion jokainen merkittävä epävarmuuskom-

ponentti tulee mitata ja arvioida.<sup>5</sup> Liitteessä 2 on kuvattu esimerkkinä kalibrointiliuoksen laimennosprosessin syy-seurauskaavio.

### 3.2 Mittausepävarmuuden laskeminen

Absoluuttinen epävarmuus ilmaisee työvälineen epävarmuuden rajat. Suhteellinen epävarmuus taas kertoo absoluuttisen virheen suuruuden suhteutettuna työvälineen kokoon nähden. Epävarmuustekijöitä yhdistettäessä on tunnettava yksittäisen tuloksen jakauma. Normaalijakauma on yleisin jakaumamuoto, sen todennäköisimpänä tuloksena pidetään jakauman keskikohtaa. Mitä etäämmälle keskikohdasta mennään, sitä epätodennäköisempänä tulosta pidetään, kuten kuvasta 2 nähdään. Toinen yleinen jakauma on tasajakauma. Tasajakaumassa tuloksen sijoittuminen mihin tahansa vaihteluvälillä, on yhtä todennäköistä<sup>5</sup>.



Kuva 2: Tulosten tilastollinen sijoittuminen normaalijakaumassa.<sup>5</sup>

Epävarmuuskomponenttia, jonka todennäköisyys on 68 %, nimitetään standardiepävarmuudeksi<sup>5</sup>. Eri työvaiheiden standardiepävarmuuksia ei voi pelkästään laskea yhteen, koska osa virheistä vaikuttaa tulokseen negatiivisesti, toiset positiivisesti<sup>7</sup>. Suhteelliset mittaepävarmuudet summataan neliöllisesti yhteen kaavan 1 mukaisesti.

$$\frac{\Delta F}{F} = \sqrt{\sum_{i=1}^N \left(\frac{\Delta x_i}{x_i}\right)^2}$$

Kaava 1: Yksittäiset mittaepävarmuudet yhdistetään kokonaismittaepävarmuudeksi oheisen kaavan mukaan.<sup>5</sup>

Yleensä epävarmuus ilmoitetaan laajennettuna suhteellisenä epävarmuutena, jolloin sillä on 95 %:n luotettavuus. Jos epävarmuuskomponentit ovat normaali-jakautuneita, eikä joukossa ole dominoivaa tasajakautunutta komponenttia, saadaan 95 %:n luotettavuus kattavuuskertoimella  $K=2$ , kuten kaavassa 2 on esitetty. Tulosta ilmoitettaessa mainitaan kattavuuskerroin ja laajennettu epävarmuus  $U$ .<sup>5</sup>

$$F = \pm \Delta F \cdot 2$$

Kaava 2: 95 %:n luotettavuus saadaan kertomalla kokonaisepävarmuus kattavuuskertoimella 2.<sup>5</sup>

## 4 AUTODELFIA

AutoDELFIA on Wallacilla suunniteltu aikaerotteiseen fluorometriaan perustuva automatisoitu analyysilaitte. Laite ja sen käyttöön suunnitellut diagnostiset kitit on tarkoitettu terveydenhuollon potilasseulontoihin. Kitit sisältävät seulontaan tarvittavat reagenssit ja sopivalla vasta-aineella pinnoitetun levyn.

Prenatal-kitit ovat tarkoitettu raskausaikana tehtäviin seulontoihin. Kiteillä voidaan seuloa raskausmyrkystä ja sikiöllä esiintyviä erilaisia kromosomipoikkeamia, kuten esimerkiksi Downin syndroomaa ja Edwardsin syndroomaa. Neonatal-kiteillä seulotaan vastasyntyneiden sairauksia. Vastasyntyneiden seulonnoilla voidaan löytää esimerkiksi kilpirauhasen vajaatoiminta ja synnynnäinen lisämunuaiskuoren hyperplasia. Neonatal-seulonnoilla löydetty sairaudet pystytään usein hoitamaan, kunhan hoitotoimenpiteet aloitetaan riittävän aikaisin. Hoitamattomina sairaudet aiheuttavat vakavia terveys-ongelmia tai jopa kuoleman.<sup>8</sup>

### 4.1 Toimintaperiaate

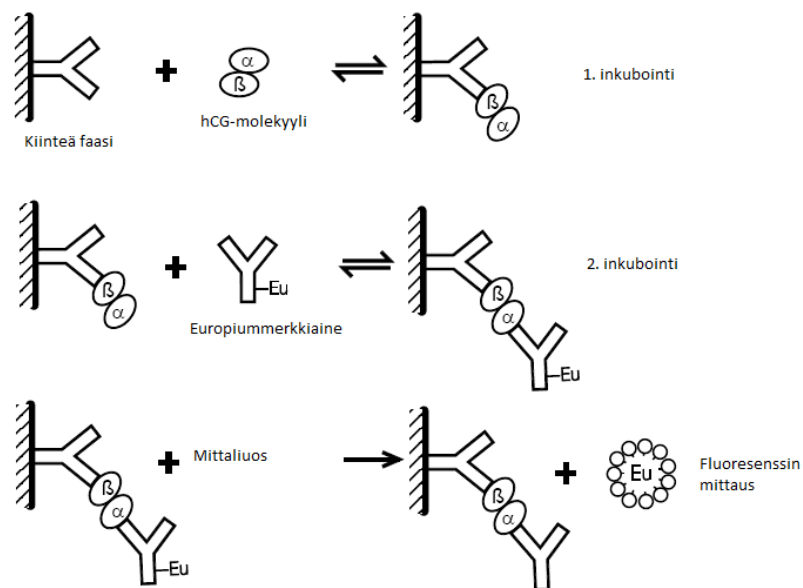
AutoDELFIA on aikaerotteinen fluorometri. Määritykset ovat IFMA- (*engl.* Immunofluorometric assay) ja FIA-tyyppisiä (*engl.* Fluoroimmuno assay). Määritykset perustuvat vasta-ainereaktioon, jossa merkkiaineena käytetään fluorensioivaa yhdistettä. IFMA-tyyppisissä määrityksissä näytteen signaali nousee, pitoisuuden kasvaessa. FIA-tyyppisessä määrityksessä signaali laskee määritettävän yhdisteen konsentraation kasvaessa. IFMA-määrityksissä on ominaista, että nollastandardin taso on matala. Myös standardikuvaajan lineaarisuus laajalla alueella on IFMA-määritykselle ominaista. IFMA-määritys edellyttää antigeenin koon olevan niin suuri, että se pystyy sitomaan vähintään kaksi eri vasta-ainetta. FIA-määritykselle on ominaista, että pieni signaalitason muutos voi aiheuttaa suuren muutoksen pitoisuudessa. FIA-määrityksiä käytetään pienimolekyylisillä yhdisteillä, kuten steroidihormoneilla.<sup>9</sup>



Molemmissa menetelmissä vasta-aine leimataan europiumilla ja kuoppalevy pestään. Pesun jälkeen kuopassa on jäljellä ainoastaan immunoreaktiossa kiinnittyneet leimatut vasta-aineet tai antigeenit. Mittaliuos dissosioi kuopan seiniin kiinnittyneen europiumin, josta muodostuu fluorensioiva kelaatti. Kelatoitumisen jälkeen levyt mitataan aikaerotteisella mittaussmenetelmällä. Kuvassa 3 on kuvattu vasta-aineen leimaaminen europiumilla leimattu vasta-aine.<sup>9</sup>

Aikaerotteisessa mittaussmenetelmässä levyn kuopissa oleva liuos eksitoidaan valoimpulsseilla. Linsseillä ja suodattimilla voidaan muuttaa aallonpituutta. Europiumkelaatin energiataso kasvaa hetkellisesti. Energian purkautuessa liuos emittoi valoa, jota kutsutaan fluoresenssiksi. Emittoituva säteily johdetaan linsien ja suodattimien läpi valomonistimelle. Valomonistinputki monistaa valomäärän noin miljoonakertaiseksi ja muuttaa sen signaaliksi. Aikaerotteisessa menetelmässä signaali mitataan 400  $\mu$ s kuluttua virityspulssista. Mittaus kestää 400  $\mu$ s, jonka jälkeen on 200  $\mu$ s tauko ennen seuraavaa virityspulssia. Jokaista kuoppa mitataan n 1000 kertaa. Saatu signaaliarvo on mittausten summa. Tällä tavoin minimoidaan taustaemission vaikutus tulokseen.<sup>9</sup>

Markkinoilla on myös kittejä, joissa leima-aineena käytetään molempia, europiumia ja samariumia. Samariumin ja europiumin mittaukset suoritetaan eri linssein, jotta mittauksilla pystytään erottamaan molempien aineiden pitoisuudet erillisinä tuloksina. Linsseillä voidaan muuttaa valon aallonpituutta.<sup>10</sup> Europiummäärittelyksissä optimaalinen näytteeseen ohjattavan valon aallonpituus on 615 nm ja samariumin 645 nm<sup>11</sup>.



Kuva 3: hCG-vasta-aineen leimaaminen europiumilla.<sup>12</sup>

#### 4.2 Laitteen mittausominaisuudet

IVD-laitevalmistajan edellytetään määrittävän laitteen mittaominaisuudet ja ilmoittamaan ne laitteen mukana olevassa dokumentaatiossa asiakkaalle<sup>27</sup>. AutoDELFIA:n mittausten toistettavuus on hyvä. Tämä on todettavissa myös laadunvalvonnan mittatuloksien pienestä keskihajonnasta<sup>13</sup>. AutoDELFIA:n mitta-  
pää pystyy ohjekirjan mukaan erottamaan 5 desimaalin tarkkuudella pitoisuudet. Aikaeroitteisen fluorometrin, kuten AutoDELFIA:n, osoitusraja on alle 12 amol/näyte. Tavallisen fluorometrin osoitusraja on alle 10 fmol/näyte.<sup>14</sup>

Teknisen tuen työntekijöiden mukaan AutoDELFIA:lla tehdyissä tarkastusmittauksissa ilmenevä ongelma on, että tulokset vaihtelevat paljon, kun mitataan eri tuotantoerien pitoisuuksia. Pitkällä aikavälillä mittaustuloksiin alkaa vaikuttaa myös laitteen komponenttien kuluminen. Tämän takia säännölliset tarkastusmitaukset ja huollot ovat tärkeitä. AutoDELFIA:ssa on valodiodi, joka mittaa näytteeseen ohjatun valon määrää. Valodiodin mittauksen perusteella laite säättää valoimpulssien lukumäärän niin, että jokainen näyte saisi saman suuruisen energiamäärän, valoputken käytössä tapahtuvasta kulumisesta huolimatta.<sup>10</sup>

## 5 FLUORESENSSI

AutoDELFIA:n analyyseissä määritetään leima-aineina käytettyjen maa-alkalimetallien fluoresenssia. Luminesenssimolekyylit absorboivat energiaa kemiallisista reaktioista tai säteilystä kvantteina eli fotoneina. Valokvantin energia voidaan laskea kaavalla 3. Perustilassa olevan atomin energia on minimissään, eikä se voi lähettää säteilyä. Atomin absorboidessa energiaa sen elektronit nousevat korkeammalle energiatasolle. Atomi pyrkii palauttamaan energiata-sonsa perustilaan. Tämä tapahtuu emissiona, joka on absorptiolle käänteinen reaktio. Emittoidessa elektronit palautuvat matalimmalle energiatasolle vapauttaen samalla energiaa ympäristöönsä valona. Valon emissio jaetaan kahteen tyyppiin fluoresenssiin ja fosforesenssiin.<sup>15</sup>

Fluoresenssi on fosforisenssiin verrattuna nopea prosessi, ja sen spektri on aallonpituudeltaan pidempi. Fluoresenssissa elektroni palautuu alimpaan energiatasoon suoraan.<sup>16</sup>

$$E = \frac{h \cdot c}{\lambda}$$

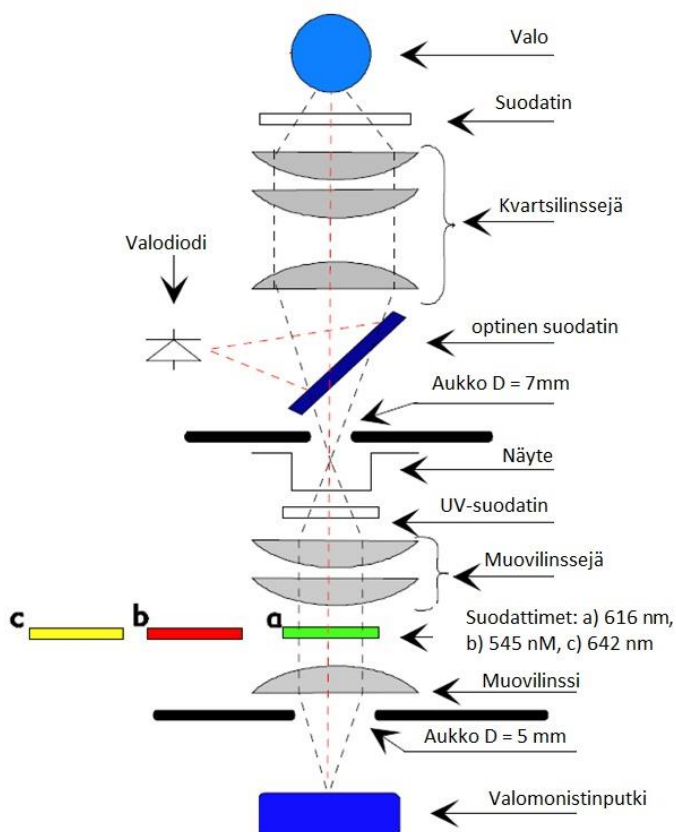
Kaava 3: Valokvantin energiayhtälö.  $h$  = Plancin vakio,  $c$  = valonnopeus,  $\lambda$  = Aallonpituus

### 5.1 Fluorometri

Fluorometrin valonlähteestä johdetaan eksitaatioaallonpituudella energiaa näytteeseen. Fluorometri mittaa näytteestä emissioaallonpituudella vapautuvan energian määrää. Aallonpituuksia hallitaan laitteen linseillä. Fluorometrin valonlähteellä ja linssiyhdistelmällä ohjataan tietyn aallonpituista valoenergiaa tarkasti tunnettu määrä tutkittavaan näytteeseen. Valon ja linssiyhdistelmän kaaviokuva on esitetty kuvassa 4. Valon sammuesssa näytteessä oleva leima-aine emittoi valoa, joka ohjataan peilien ja linssien kautta valomonistinputkelle. Va-

lomonistin mittaa emittoituvaa valoa pulsseina (*engl.* counts). Teoriassa yhden fotonin aiheuttama pulssi on yhden countsin suuruinen.<sup>16</sup>

Wallac Oy:n valmistamat fluorometrit ovat aikaerotteisia, eli ne eivät mittaa säteilyenergiaa heti valopulssin lakattua. Menetelmässä leima-aineena on käytettävä maametallien fluoresenssiominaisuuksia, koska niiden fluoresenssin kesto on riittävän pitkäaikainen. Käytettäviä maametalleja ovat europium, terbium ja samarium. Aikaviiveen ansiosta menetelmästä saadaan herkempi, kun taustasignaali on ehtinyt pienentyä ennen valopulssin mittausta.<sup>18</sup>



Kuva 4: AutoDELFIA:n optiikka<sup>17</sup>

## 6 KALIBROINTI- JA STANDARDILIUOSVALMISTUS

Kalibroitiliuoksen tarkkuuteen vaikuttavat valmistusprosessin virheiden lisäksi liuoksen säilytyksen aikana tapahtuneet muutokset. Kalibroitiliuoksen tulee olla pitoisuudeltaan tarkempi, kuin sillä kalibroitavan laitteen tarkkuus<sup>5</sup>. Tämä pitää huomioida suunniteltaessa liuoslaimennosprosessia.

Kalibroitiliuosten säilyvyys on tunnettava tarkkaan. Laimeiden liuosten konsentraatio saattaa muuttua muutamassa päivässä 2-3 %. Laimeat liuokset, alle  $1 \text{ mg/dm}^3$ , suositellaan valmistettavan juuri ennen käyttöä. Käytettäessä laimennossarjaa, tulee laimennokset suunnitella siten, että laimennusvaiheiden määrä on enintään kaksi. Yli kolmen laimennusvaiheen liuoksia tulee välttää.<sup>5</sup> Mittalaitteiden mittaepävarmuus kertautuu jokaisessa työvaiheessa, myös satunnaisvirheiden määrä kasvaa aina, kun liuosta käsitellään.

Wallacin valmistamien standardi- ja kalibroitiliuosten liuosten karakterisointiin ei ole muuta menetelmää kuin aikaerotteinen fluoresenssi liuosten matalan pitoisuuden takia. Tästä johtuen  $1 \text{ nM}$ :n liuoksen laimennossarja täytyy olla luotettava ja sen kokonaisepävarmuus on tunnettava, jotta saavutettuun konsentraatioon voidaan luottaa. Standardiliuoksille tehdään Wallacissa laadunvalvontaa käyttämällä aikaerotteista fluorometria.<sup>18</sup>

### 6.1 Europium-, samarium- ja terbiumkalibroitiliuokset

Kalibroitiliuoksia valmistetaan kerralla pieniä määriä. Kalibroitiliuoksia käytetään Wallacin omien laadunvalvontafluorometrien kalibroinnissa ja virityksessä. Kalibroitiliuosta käytetään myös referenssiliuoksena valmistettaessa standardiliuoksia.<sup>18</sup>

Laimennokset tehdään pääasiassa gravimetrisesti, ei pipetoimalla. Valmistusprosessi on suunniteltu siten, että mahdollisimman moni ympäristötekijä otetaan huomioon, jopa liuoksen massaan vaikuttava noste. Liuosta laimennetaan vii-

dessä työvaiheessa.<sup>19,18</sup> Tämä aiheuttaa epätarkkuutta perusteellisesti suunnitellusta prosessista huolimatta.

Kalibrintiliuoksen valmistusprosessi on jäljitettävissä jokaisen työvälineen osalta aina NIST:n sertifioimaan tarkasti pitoisuudeltaan tunnettuun liuokseen saakka. Myös liuosvalmistuksen yhdistetty, suhteellinen mittaepävarmuus on laskettu ja dokumentoitu asianmukaisesti<sup>20</sup>.

## 6.2 Europium-, samarium- ja terbiumstandardiliuokset

Standardiliuosta myydään asiakkaille laitteiden virittämistä ja kalibroimista varten. Myös kenttähuolto ja instrumenttituotanto käyttävät tätä liuosta uusien ja huollettavien laitteiden virittämiseen. Laadunvalvonnan fluorometrit viritetään standardiliuksella, jos viritys tehdään muun huollon yhteydessä.<sup>11</sup>

Standardiliuos laimennetaan, kuten kalibrintiliuoskin, NIST:n sertifioimasta liuoksesta. Standardiliuosten laimennosprosessissa käytetään epätarkempia työvälineitä ja menetelmiä, kuin kalibrintiliuoksen laimennosprosessissa. Prosessi ei sisällä yhtä useita välilaimennoksia, kuin kalibrintiliuos.<sup>18</sup> 1 nM europium-standardiliuos laimennetaan kahdessa peräkkäisessä prosessissa. Prosessien välillä suoritetaan laadunvalvontaa laimentamalla osa liuoksesta 10 µM:sta 1 nM:ksi. Laimennetun liuoksen pitoisuus mitataan laadunvalvonnassa fluorometrillä. Saatu signaali jaetaan referenssiliuoksen signaalilla ja kerrotaan miljoonalla. Referenssiliuksena käytetään 1 nM:sta europium kalibrintiliuosta. Verrannolla saatu signaali suhteutetaan siihen pitoisuuteen, joka liuksella oli ennen laadunvalvonnan laimennusta. Signaali muutetaan liuoksen molaariseksi pitoisuudeksi suhteella  $1 \text{ nM} = 1000\,000 \text{ cps}$ . Seuraavassa laimennosprosessissa aloituspitoisuutena on laadunvalvonnassa saatu verrantosignaalista muutettu molaarinen pitoisuus. Käytetyllä aloituspitoisuudella on suora vaikutus liuoksen loppupitoisuuteen.<sup>18</sup>

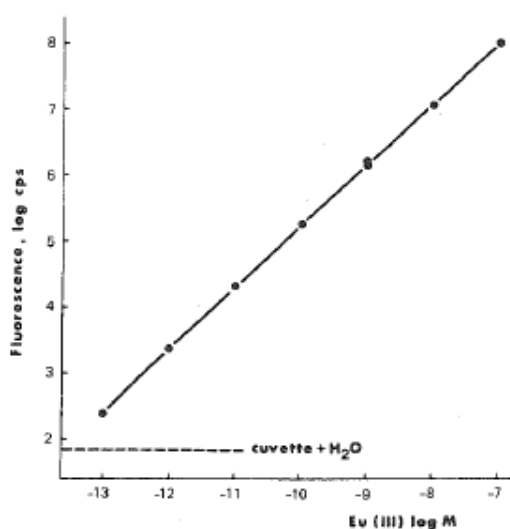
Sertifikaatissa 1 nM:n Europimliuoksen pitoisuus ilmoitetaan countseina  $1\,000\,000 \pm 80\,000 \text{ cps}$ <sup>21</sup>. Sertifikaatin pitoisuus perustuu päätettyyn tavoitesignaaliin, joka on esitetty kuvassa 5. Virheraja perustuu standardiliuoksen valmistuspro-

sessin laskettuun laajennettuun mittaepävarmuuteen. Wallacin valmistamat aikaerotteiset fluorometrit viritetään niin, että 1 nM europiumliuos saa mitattaessa arvon  $1\,000\,000 \pm 20\,000$  cps.<sup>11</sup>

Liuoserien laadunvalvonnassa tarkastetaan aikaerotteisella fluorometrillä mittauksia. Standardiliuoksen countseja verrataan kalibrintiliuoksesta mitattuihin countseihin.<sup>18</sup>

### 6.3 Europium- ja samariumlineaarisuussarjat

Kalibroinneissa käytettävät lineaarisuussarjat on käytössä ainoastaan Wallacin omien laadunvalvontalaitteiden kalibroinneissa. Tuotteita ei myydä asiakkaille. Europiumlineaarisuussarja valmistetaan laimentamalla 1 nM:n europiumkalibrintiliuoksen 100 nM:sta välilaimennosta gravimetrisesti lisää.<sup>22</sup> Europiumin lineaarisuus aikaerotteisella fluorometrillä näkyy kuvassa 5. Europiumia sisältävä lineaarisuusarja pitää sisällään seuraavat konsentraatiot: 0-näyte, 0,0006 nM, 0,006 nM, 0,06 nM, 0,6 nM, 1 nM, 6 nM, 8 nM ja 10 nM. Samariumsarjassa on seuraavat pitoisuudet: 0-näyte, 0,006 nM, 0,06 nM, 6 nM, 10 nM, 15 nM ja 20 nM.<sup>23</sup>



Kuva 5: Europium (III) standardisuora aikaerotteisella fluorometrillä mitattuna.<sup>15</sup>

## 7 AUTODELFIA:N KALIBROINTIOHJE

AutoDELFIA:n analyysitulokset perustuvat useisiin mittaustuloksiin vaikuttavista kokonaisuuksista. Wallacin oma kalibrointiohje laitteelle sisältää eri osille erilliset kalibrointiohjeet ja hyväksymisrajat. Ohje on suunniteltu laadunvalvonnassa käytettävien AutoDELFIA-laitteiden kalibrointiin. Kalibroinnissa käytetään useita referenssiluoksia.<sup>24</sup>

### 7.1 Signaalitason mittaukset

Signaalitaso ja tausta kalibroidaan 1 nM europium-, 10 nM samarium-, 1 nM terbium- ja Triton X100-liuoksilla (0,1 % W/V). Kunkin liuoksen kohdalla tehdään 12 rinnakkaista mittausta. Kalibroinnin lisäksi ohje sisältää viitteen laitteen signaalitason virittämiseen. Signaalitason tasaisuus tarkastetaan pipetoimalla pinnoittamattoman levyn 96 kaivoon 200 mikrolitraa europiumstandardiliuosta ja mittaamalla koko levyn signaalitaso. Tuloksista lasketaan signaalitason keskihajontaprosentti. Suureen keskihajontaan saattaa vaikuttaa esimerkiksi asemointivirheet valolähteessä tai mittapäässä. AutoDELFIA:n signaalitason lineaarisuus tarkastetaan europium- ja samariumliuoksilla. Lineaarisuudessa käytetään kahdetoista rinnakkaismäärittystä jokaisesta pitoisuudesta ja se määritetään seitsemällä pitoisuudella.<sup>24</sup> Lineaarilla kalibroinnilla osoitetaan, että laitteen tulokset ovat luotettavia ja lineaarisia koko määrittämisalueella. Lineaarinen kalibrointi tulee suorittaa vähintään viidellä määrittämisalueen pitoisuudella. Suoran alin pitoisuus tulee olla pienempi, kuin pienin mahdollinen potilasnäyte, ja vastaavasti korkein pitoisuus tulee olla potilasnäytteiden suurinta pitoisuutta korkeampi. Tällä varmistetaan, että mittalaite toimii lineaarisesti myös määrittämisalueen rajoilla.<sup>4</sup>

Signaalin ylikuuluvuuskerroin mittaa, kuinka paljon europiumin aiheuttama fluoresenssi näkyy samariumin määrittämisessä. Europiumin ja samariumin määrittämisallongpituudet ovat lähellä toisiaan, eikä niiden vaikutusta siksi saada pois suljettua tuloksista, vaikka mittaukseen käytetään eri suodattimia. Ylikuuluvuuskerroimella on merkitystä niissä määrittämisissä, joissa käytetään merkkiainena



molempia, europiumia ja samariumia. Ylikuuluvuuskerroin tarkastetaan käyttämällä 1 nM europiumstandardiliuosta.<sup>24</sup>

## 7.2 Lämpötila-anturi

Levyannostelijan lämpötila-anturin toimivuus tarkastetaan, koska lämpötila on oleellinen osa mittausten onnistumista. Laitteen pipetoidessa pieniä tilavuuksia, liuosten lämpötilalla on merkitystä tilavuuteen. Lämpötilan muutoksella on merkitystä myös fluoresenssiin. Liuosten lämpötila vaikuttaa tapahtuviin reaktioihin. Yhden Celsius-asteen nousu lämpötilassa aiheuttaa vasteeseen 1 %:n laskun. Kalibrointiohjeen mukaan lämpötila vain tarkastetaan ja kirjataan, tarpeen mukaan myös säädetään. Varsinaista kalibrointia ei lämpötila-anturille tehdä.<sup>24</sup>

## 7.3 Annostelu

Näyteannostelutarkkuus ja annostelun hajonta arvioidaan gravimetrisesti. AutoDELFIA:n jokaisella neljällä annostelukärjellä pipetoidaan viisi rinnakkaista näytettä punnittuihin tyhjiin reagenssipulloihin. Pipetoinnin tavoitetilavuus on 25 µl. Pipetoinnin tilavuus lasketaan pipetoidun liuoksen massasta tiheyden avulla. Tuloksista lasketaan hajontaprosentti ja keskiarvo.<sup>24</sup>

Levyannostelijan tarkkuus kalibroidaan myös gravimetrisesti. Levyannostelijassa on kaksi pipettiä, jotka molemmat tarkastetaan. Kalibrointiohjeesta ei selviä pipetointitilavuus, eikä rinnakkaisten pipetointien määrää.<sup>24</sup>

## 7.4 Epävarmuus

Työohjeen mukaan epävarmuuslaskennassa otetaan huomioon mittausten hajonta ja liuosten mittausepävarmuus. Epävarmuustekijät muutetaan standardiepävarmuuksiksi ja yhdistetään neliöllisesti yhdistetyksi standardiepävarmuudeksi. Yhdistetty standardiepävarmuus kerrotaan kattavuuskertoimella  $k = 2$ , jolloin tulokseksi saadaan mittausepävarmuus 95%:n varmuudella.<sup>24</sup>

## 8 TULOKSET JA MUUTOSEHDOTUKSET

Tehdyn selvitystyön perusteella voidaan todeta, että Wallac Oy:n valmistavat standardi- ja kalibrintiliuokset täyttävät luvatut laatu- ja viranomaisvaatimukset. Selvityksessä tuli silti esiin asioita, joita tarkentamalla liuosten valmistusprosessia voidaan kehittää siten, että se palvelee paremmin kenttähuollon, ja sitä kautta myös asiakkaan tarpeita. Liuoserien välinen pitoisuusvaihtelu saadaan pienellä työohjeen muutoksella vähenemään huomattavasti.

Kun standardiliuosten valmistusprosessi suunnitellaan tarkemmaksi, voidaan kenttähuollolle suunnitella ohjeet asiakkaiden laitteiden kalibroimiseksi. Ehdottamillani muutoksilla on vaikutusta Wallacin kenttähuollon toimivuuteen ja laatuun.

### 8.1 Europium standardiliuoksen laimennus

Työssä tutkittujen standardi- ja kalibrintiliuosten pitoisuuden määrittämisen ongelmaksi muodostuu fluorometrin riittämätön tarkkuus. Fluorometrien epätarkkuus saattaa olla osittain seurausta siitä, että laitteet viritetään määrittämiseen nähden liian epätarkalla standardiliuoksella. Standardiliuoksen epävarmuudeksi on laskettu  $\pm 80\,000$  cps, laite viritetään sen avulla  $\pm 20\,000$  cps:n tarkkuudella tavoitesignaaliin. Tämän lisäksi tulee huomioida myös mittapään epävarmuus, jota ei ole määritetty. Laitteen antama signaali voi tästä johtuen näyttää yli 10 % virheellisen signaalin pitoisuuksia mitatessa. Liuoksen käyttötarkoitukseen nähden riittävän tarkka laimennusprosessi vääristyy, kun liuoksen pitoisuus mitataan prosessien välissä fluorometrillä ja muutetaan tulos verrannolla konsentraatioksi. Työohjetta on syytä muuttaa mahdollisimman pian siltä osin, että jatkossa liuosten pitoisuudet lasketaan laimennusprosessin työvaiheiden perusteella, eikä enää muunneta fluorometrien antamien tulosten mukaisiksi konsentraatioiksi. Pitoisuuden lisäksi ilmoitetaan laimennusketjun laajennettu kokonaismittaepävarmuus. Muutoksen jälkeen liuseristä tulee tasalaatuisempia. Fluorometrillä on hyvä tehdä laadunvalvontaa jatkossakin valmiille tuotteelle,

koska liuoksen toimivuuteen vaikuttaa myös muut tekijät. Näin estetään epäku-  
rantin erän markkinoille pääsy. Mittaustulosten tulee olla suuntaa antavana hä-  
lytysrajana.

## 8.2 Europiumkalibrintiliuoksen laimennus

Liuoslaimennosketjua samarium-, europium- ja terbiumkalibrintiliuosten osalta kannattaa yksinkertaistaa. Nyt valmistaminen on työlästä ja virhelähteet kerään-  
tyvät pitkän ketjun ansiosta. Laskettu kokonaismittaepävarmuus, kattavuusker-  
toimella kaksi, on kalibrintiliuoksen kohdalla  $\pm 0,008 \text{ nM}$  <sup>25</sup>. Vähentämällä pro-  
sessista kaksi välilaimennosta ja poistamalla nosteen vaikutus punnitustulok-  
siin, voidaan epävarmuus puolittaa. Nosteen vaikutus punnitustuloksiin ja sitä  
kautta konsentraatioon on vähäinen. Silti nosteen vaikutuksen huomioiminen  
tuloksissa aiheuttaa sen, että myös tiheyden ja muiden laskussa käytettyjen  
muuttujien epävarmuudet täytyy tunnistaa ja lisätä kokonaisepävarmuuteen.  
Syytä useille välilaimennoksille ei löytynyt. Keskusteluissa Wallacilla työskente-  
levien kemistien kanssa, prosessin yksinkertaistamista pidettiin mahdollisena.  
Esimerkiksi 100 nM:sta europiumvälilaimennoksesta valmistetaan lineaarisuus-  
sarjan liuoksia, mutta muilla välilaimennospitoisuuksilla ei ole jatkokäyttöä.

Tuotannossa on kaksi eri tavoin valmistettua 1nM europiumliuosta, tästä saat-  
taa olla hyötyä laadunvalvonnan näkökulmasta. Liuokset valmistetaan eri mene-  
telmillä, eri laboratorioissa. Kun liuoksien mittaustuloksia verrataan toisiinsa,  
huomataan, jos toisessa prosessissa on ollut ongelmia. 1nM:n liuoksen määrit-  
täminen ja vertaaminen luotettavampaan referenssiin on ongelmallista matalan  
konsentraation takia. Wallacin fluorometrit viritetään samoilla standardiliuoksil-  
la, joiden laadunvalvontaan niitä käytetään. Laadunvalvonnasta tulisi luotetta-  
vampi, jos laitteet viritettäisiin jatkossa kalibrintiliuoksella. Koska kalibrintiliu-  
oksen valmistusprosessissa kertyvä mittaepävarmuus on pienempi ja voidaan  
siksi olettaa liuoksen olevan pitoisuudeltaan lähempänä tavoitekonsentraatiota.

### 8.3 Lineaarisuussarjat

Lineaarisuussarjojen myynti myös kenttähuollon käyttöön on tarpeellista. Nyt tarkastamiseen ja virittämiseen tarkoitettut 1nM europiumstandardiliuos ja 10 nM samariumstandardiliuos, eivät ole lähellä potilasnäytteiden pitoisuuksia, eikä siksi todista laitteen oikeanlaista toimivuutta todellisella käyttöalueella. Lineaarisuussarjan avulla asiakas saisi varmuuden laitteensa toimivuudesta myös todellisella mittausalueella. Lääkelaitos suosittelee myös lineaarisuuden tarkastamisesta kalibroinnin yhteydessä.<sup>26</sup>

### 8.4 AutoDELFIA:n mittaominaisuudet ja huolto-ohjeet

Liuoslaimennosprosessin ehdotettujen muutosten toteutuksen ja prosessin uudelleen validoinnin jälkeen, on suositeltavaa määrittää AutoDELFIA:n selektiivisyys, spesifisyys, toteamisraja, määritysraja, tarkkuus ja toistettavuus sekä merkitä ne laitemanuaaliin.

Wallacin kenttähuollolle suunniteltu ohjekirjan päivittäminen voisi yhtenäistää eri huoltohenkilöiden käytäntöjä. Ohjekirjassa on epä johdonmukaisuutta käytettävien välineiden nimityksissä. Samasta liuoksesta käytettiin eri kohdissa eri nimeä. Tuotenumero yhtenäisen nimeämisen kanssa voi tehdä laitehuollosta tasalaatuisempaa asiakkaan näkökulmasta. Huomiota tulisi kiinnittää myös käytettyihin termeihin. Ohjeissa käytetään sanaa kalibroiminen, vaikka ohjeen koskeekin laitteen osien virittämistä tai tarkastamista.

Kalibrointiohjeen suunnittelu kenttähuollon käyttöön on välttämätöntä, koska monien laboratorioiden noudattamat standardit ja viranomaisvaatimukset edellyttävät jäljitettävää kalibrointia säännöllisin väliajoin. Laittevalmistajan on otettava kantaa laitteen kalibrointisuunnitelmaan käyttöohjeessa<sup>27</sup>.

### 8.5 Europium-, samarium- ja terbiumstandardiliuosten sertifikaatit

Sertifikaatilla todistetaan asiakkaalle tuotteen pitoisuus. Sertifikaatin periaate on ristiriidassa nykyisen käytännön kanssa, jossa sertifikaatti kertoo pitoisuuden sijaan laitteen tavoitesignaalin ja säätörajat.

Asiakkaalle annettavan sertifikaatin sisällön muuttaminen on perusteltua, jos standardiliuosta käytetään kalibrointiin. Jotta asiakkaan tekemä kalibrointi olisi laatuvaatimusten mukaisesti jäljitettävissä, pitäisi sertifikaatissa ilmoittaa liuosen laskennallinen pitoisuus, sekä laajennettu, eräkohtaisesti laskettu kokonaismittaepävarmuus. Tällä muutoksella sertifikaatti vastaa enemmän tarkoitustaan ja asiakas saa kalibroinnilleen paremman jäljitettävyyden.

Sertifikaatissa voidaan myös mainita tavoitesignaali, joka kyseisellä pitoisuudella tulisi saada. Nykyisissä countsien virherajoissa on huomioitu ainoastaan liuosvalmistuksen aiemmin laskettu mittaepävarmuus. On ehdottoman tärkeää huomioida luvussa myös laitteen oma epävarmuus.

### 8.6 Eräohjeiden täyttö ja jäljitettävyys

Wallacin laatukäsikirja edellyttää merkitsemään kaikki tuotannon käytössä olevat työvälineet aakkosnumeerisella tunnisteella. Laitteisiin on merkitty myös muita numerosarjoja. Täytetyissä työohjeissa esiintyy merkittävän usein väärä tunnistenumero. Jäljitettävyys vaikeutuu huomattavasti, jos oikea SAP-tunnisteen sijaan ohjeeseen on merkitty vanhentunut laitetunnus. Ongelma ratkeaa henkilökunnan koulutuksella.

## LÄHTEET

- 1 Kase M. & Furu P. Tervetuloa taloon-koulutusmateriaali. 2015 Wallac Oy
- 2 Fagerstöm A-C & Sahlberg H. Wallac Oy:n laatujärjestelmä-koulutusmateriaali. 2015 Wallac Oy
- 3 Suomen standardisoimisliittoSFS. SFS-EN ISO/IEC 17025:2005-standardi
- 4 Lehtonen, P. & Sihvonen, M-L. 2004 Laboratorioalan analyttinen kemia. Opetushallitus
- 5 Hemminki, S.; Hiltunen, E.; Hägg, E.; Järvenpää, E.; Kärhä, P.; Linko, L.; Saarinen, P.; Simonen, S. 2011 Laadukkaan mittaamisen perusteet. Espoo: Mikes Metrologian neuvottelukunta
- 6 Wallac Oy. SOP13902518 versio 05: Mittanormaalit.
- 7 Hänninen, H.; Ruismäki, M.; Seikola, A.; Slöör, S. 2007 Laboratoriotyön perusteet, Edita Prima OY 2007
- 8 PerkinElmer. Tuote-esitteet 2011.
- 9 Wallac Oy. DELFIA-määrittämis-koulutusmateriaali.
- 10 Ragnell S. Valonmittaus – Miten laite sen tekee? – koulutusmateriaali 2015 Wallac Oy
- 11 Wallac Oy. 2012. 1235 AutoDELFIAService manual.
- 12 PerkinElmer. 2011. DELFIA hCG – käyttöohje.
- 13 Wallac Oy:n laadunvalvonta dokumentit.
- 14 Wallac Oy. 2010. User manual 1420 VICTOR<sup>2</sup> D.
- 15 Hemmälä, I. 1986. Lanthanides as probes for time resolved fluorometric immunoassays. Turku 1986.
- 16 Jaarinen, S.; Niiranen J. 2008. Laboratorion analyysitekniikka. Edita
- 17 Wallac Oy. 2014. AutoDELFIA Instrument manual.
- 18 Wallac Oy. Leimavalmistuksen eräohje 13802767 versio 04.
- 19 Wallac Oy. Liuosvalmistuksen eräohje 13806516 versio 03.
- 20 Wallac Oy. Kalibrointidokumentit
- 21 Wallac Oy. 1nM Europiumliuoksen sertifikaatti.
- 22 Wallac Oy. 0,6 pM – 10 nM eu-lineaarisuussarjan eräohje 13806517 versio 03.
- 23 Wallac Oy. 6 pM - 20 nM sm-lineaarisuussarjan eräohje 13806996 versio 03.
- 24 Wallac Oy. AutoDELFIA-määrittäslaitteen kalibrointi 13903427 versio 03.
- 25 Wallac Oy. 1 nM kalibrointiliuoksen mittaepävarmuus laskelma

---

26 Knuuttila J.; Kylmälä K.; Liukko M.; Pommelin P. 1999 Terveysthuollon hallinta. Lääkelaitos.

27 Euroopan Parlamentin ja neuvoston direktiivi 98/79/EY

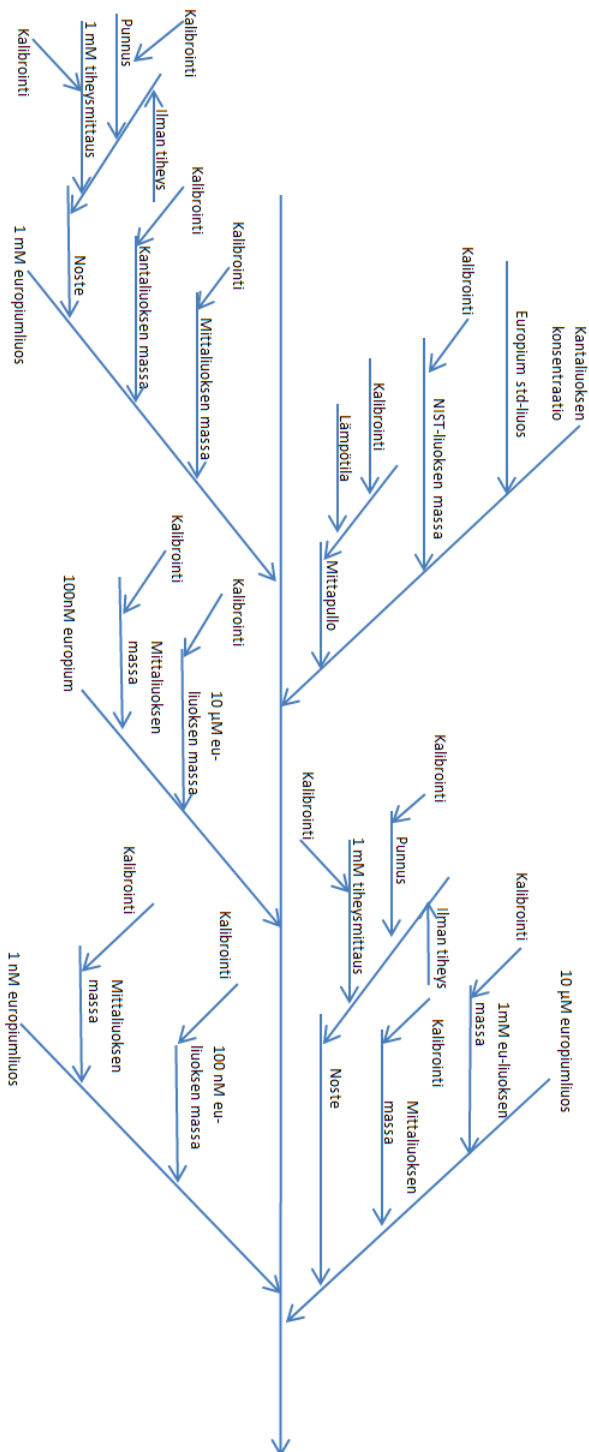
RECOGNIZED REGULATIONS AND STANDARDS
Suomen laki; Laki terveydenhuollon laitteista ja tarvikkeista (629/2010)
Directive 98/79/EC = IVD
Directive 2006/42/EC = Machinery (MD)
Directive 2006/95/EC = Electrical Equipment designed for use within certain voltage limits
Directive 2004/108/EC = Electromagnetic compatibility
Health Canada; Medical Devices Regulations SOR/98-282
US FDA Quality System Regulations 21 CFR 820

Taulukko 1: Wallac Oy:n täyttämät viranomaisvaatimukset

STANDARD REFERENCE	TITLE
EN ISO 9001:2008	Quality management systems -Requirements (ISO 9001:2008)
EN ISO 9001:2008/AC:2009	Quality management systems -Requirements (ISO 9001:2008/Cor 1:2009)
EN ISO 13485:2012	Medical devices -Quality management systems Requirements for regulatory purposes (ISO 13485:2003)
EN ISO 13485:2012/AC:2012	Medical devices -Quality management systems Requirements for regulatory purposes -Technical Corrigendum 1 (ISO 13485:2003 + Cor 1:2009)
EN 13612:2002	Performance evaluation of in vitro diagnostic medical devices
EN 13612:2002/AC:2002	Performance evaluation of in vitro diagnostic medical devices
EN 13641:2002	Elimination or reduction of risk of infection related to in vitro diagnostic reagents
EN 13975:2003	Sampling procedures used for acceptance testing of in vitro diagnostic medical devices -Statistical aspects
EN ISO 14971:2012	Medical devices -Application of risk management to medical devices (ISO 14971:2007, Corrected version 2007-10-01)
EN 980:2008	Symbols for use in the labelling of medical devices
EN ISO 15223-1:2012	Medical devices -Symbols to be used with medical device labels, labelling and information to be supplied -Part 1: General requirements (ISO 15223-1:2012)
EN ISO 17511:2003	In vitro diagnostic medical devices -Measurement of quantities in biological samples -Metrological traceability of values assigned to calibrators and control materials (ISO 17511:2003)
EN ISO 18113-1:2011	In vitro diagnostic medical devices -Information supplied by the manufacturer (labelling) -Part 1: Terms, definitions and general requirements (ISO 18113-1:2009)
EN ISO 18113-2:2011	In vitro diagnostic medical devices -Information supplied by the manufacturer (labelling) -Part 2: In vitro diagnostic reagents for professional use (ISO 18113-2:2009)
EN ISO 18113-3:2011	In vitro diagnostic medical devices -Information supplied by the manufacturer (labelling) -Part 3: In vitro diagnostic instruments for professional use (ISO 18113-3:2009)
EN ISO 23640:2011	In vitro diagnostic medical devices -Evaluation of stability of in vitro diagnostic reagents (ISO 23640:2011)
EN 61010-1:2010	Safety requirements for electrical equipment for measurement, control, and laboratory use -Part 1: General requirements
EN 61010-2-101:2002	Safety requirements for electrical equipment for measurement, control, and laboratory use -Part 2-101: Particular requirements for in vitro diagnostic (IVD) medical equipment
EN 61326-1:2013	Electrical equipment for measurement, control and laboratory use -EMC requirements -Part 1: General requirements
EN 61326-2-6:2006	Electrical equipment for measurement, control and laboratory use -EMC requirements -Part 2-6: Particular requirements -In vitro diagnostic (IVD) medical equipment
EN 62304:2006	Medical device software -Software life-cycle processes
EN 62304:2006/AC:2008	Medical device software -Software life-cycle processes
EN 62366:2008	Medical devices -Application of usability engineering to medical devices

Taulukko 2: Wallac Oy:n täyttämät laatuvaatimukset.





Kuva 6: Esimerkki syy-seurauskaaviosta europiumkalibrointiliuoksen valmistusprosessissa.